



# Generation of retinal pigment epithelium from human induced pluripotent stem cells showed polarized secretion of VEGF and PEDF

著者	鎌尾 浩行
著者(英)	Kamao Hiroyuki
学位名	博士(医学)
学位授与機関	川崎医科大学
学位授与年度	平成25年度
学位授与年月日	2014-03-13
学位授与番号	35303甲第609号
URL	<a href="http://doi.org/10.15111/00000016">http://doi.org/10.15111/00000016</a>

氏名(本籍)	かまお ひろゆき 鎌尾 浩行 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第609号
学位授与日付	平成26年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Generation of retinal pigment epithelium from human induced pluripotent stem cells showed polarized secretion of VEGF and PEDF
審査委員	教授 宮本 修      教授 砂田 芳秀      教授 濃野 勉

#### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

加齢黄斑変性症の根治治療法の一つとして、人工多能性幹細胞（iPS細胞）から分化させた網膜色素上皮細胞（RPE）を使った移植治療が検討されている。iPS細胞の培養とその分化誘導法は他の細胞培養法と大きく異なり熟練の技術を要することから、本学での再生医療研究を見据えてiPS細胞由来RPEの作製が可能であるかについて検討を行った。RIKEN CELL BANKよりヒトiPS細胞を入手しフィーダー細胞上で3ヶ月間維持培養－1週間凍結保存－3ヶ月間維持培養を行い、OCT3/4などの未分化マーカー発現を調べたところ培養iPS細胞は全ての未分化マーカーを発現していた。次にSFEB法にてiPS細胞からRPEへの分化誘導を試みた。得られた色素を有する細胞は形態学的に敷石状を示し、微絨毛や密着結合を有し、BEST1やZO-1などのRPE特有のマーカーを発現していた。機能的にも高い密着結合能を示し、VEGFやPEDFなどの栄養因子の極性分泌能を有していた。以上のことから作製したiPS細胞由来RPEは生体のRPEと同様の特性を有していることが確認された。

iPS細胞は患者本人の細胞を用いるために拒絶反応や倫理的な問題がなく理想的な移植源となりうる。さらに加齢黄斑変性症への移植はRPEを単層のシート状にして黄斑部だけに移植すれば良いことから、形態学的に移植片のRPEへの純化を確認しやすく、未分化細胞の混入による腫瘍化の危険性が低い。このため、iPS細胞による移植への臨床応用として加齢黄斑変性症は最初の適用疾患となる可能性が高い。本申請研究は、本学の研究環境下でヒトiPS細胞の培養・増殖とRPEへの分化誘導が可能であることを示し、本学においてiPS細胞を使った再生医療や疾患モデル作製による病態解明などの研究へ繋がることを期待されるものであり、学位論文として十分に価値の高いもの

であると考えられた。

### 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

試験は公開形式で、平成 25 年 12 月 19 日 14 時より 30 分間にわたり申請者による研究内容についてのプレゼンテーションが行われた。さらに、作製した RPE を疾患モデル動物に移植して生体内での機能評価を行った内容についても追加発表が行われた（この内容については本学位審査会の直前に国際幹細胞学会の学会誌に受理されている）。その後の各審査委員による審査では、DNA メチル化パターンの確認、RPE の純化方法、若年者と高齢者から作製した iPS 細胞特性の違い、VEGF と PEDF の極性分泌の生理的意味、今後の臨床応用の方法など多岐にわたる質疑がなされ、いずれも適切な回答が得られた。その過程で申請者は当該研究領域において十分な知識と研究に対する真摯な態度と意欲を持っていることを示し、今後の研究の発展が大いに期待された。審査委員による合議の結果、本学位申請者は専攻科目に関する十分な学識と研究遂行能力を有するとの判断によって合格と判定した。